

①⑨ RÉPUBLIQUE FRANÇAISE  
INSTITUT NATIONAL  
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE  
PARIS

①⑪ N° de publication : **2 554 348**  
(à n'utiliser que pour les  
commandes de reproduction)

②① N° d'enregistrement national : **83 17684**

⑤① Int Cl<sup>e</sup> : A 61 K 49/02; C 08 B 37/10; G 01 N 33/80.

⑫

## DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

②② Date de dépôt : 4 novembre 1983.

③⑦ Priorité :

④③ Date de la mise à disposition du public de la  
demande : BOPI « Brevets » n° 19 du 10 mai 1985.

⑥⑦ Références à d'autres documents nationaux appa-  
rentés :

⑦① Demandeur(s) : *TISSIER Gérard Léon Louis Robert.* —  
FR.

⑦② Inventeur(s) : Gérard Léon Louis Robert Tissier.

⑦③ Titulaire(s) :

⑦④ Mandataire(s) : Rinuy, Santarelli.

⑤④ Complexes hépariniques marqués au moyen de radio-éléments de vie courte émetteurs de radiations non ionisantes, leur procédé d'obtention, les produits intermédiaires et application de ces complexes.

⑤⑦ Les produits industriels nouveaux de l'invention, applicables dans les domaines de la biochimie, de la biologie et de la médecine, sont des complexes hépariniques comprenant au moins une molécule d'héparine comportant au moins un atome de radio-élément de vie courte émetteur de radiations non ionisantes tels que Tc 99 m ou I 123.

Leur procédé d'obtention consiste à associer à une solution de base d'héparine tamponnée à pH 6 un agent susceptible de réagir avec le radio-élément pour former un nouveau complexe héparinique (dérivé stanneux ou association avec du chloroglycoluril) et à fixer ledit radio-élément par réaction avec ledit complexe.

FR 2 554 348 - A1

La présente invention concerne de nouveaux complexes dérivés de l'Héparine dits ci-après complexes marqués comprenant au moins un atome de radio-élément de vie courte émetteur de radiations non ionisantes, ces  
5 complexes demeurant stables sans modification des propriétés du dérivé héparinique utilisé au départ comme substrat.

L'invention concerne également l'obtention de ces nouveaux complexes ainsi que leurs applications dans les  
10 domaines de la biochimie, de la biologie et de la médecine, applications au cours desquelles on recherche le devenir de l'Héparine ou de ses dérivés dans les organismes vivants, dans le but d'établir un diagnostic de l'existence ou du risque de thromboses, un pronostic de l'affection ou dans  
15 le but de déterminer l'efficacité, l'opportunité et/ou la durée d'un traitement anti-coagulant.

L'invention couvre également les produits intermédiaires, à titre de produits industriels nouveaux  
20 servant à l'obtention des complexes marqués finals.

Il est bien connu que la méthode préférée, pour suivre le devenir dans un organisme vivant d'un principe actif médicamenteux, consiste à adjoindre ou à fixer sur  
25 ledit principe actif médicamenteux un radio-élément convenablement choisi et que l'on qualifie de traceur ou de marqueur en raison de la possibilité qu'il offre de pouvoir être détecté et par conséquent de pouvoir suivre le cheminement, au cours de son métabolisme, du principe actif auquel il est associé  
30 par des moyens externes.

Dans le cas particulier de l'Héparine, on sait que l'on rencontre des difficultés en ce sens que les techniques connues pour lui adjoindre un radio-élément

## 2.

dénaturent la plupart du temps la molécule de base choisie et par conséquent rendent impossible la réalisation d'expériences ou d'essais fiables et reproductibles. Par ailleurs, la substitution sur la molécule de base d'atomes "froids" par des atomes radio-actifs en général de vie longue, ne donne que des renseignements fragmentaires et peu fiables, la difficulté résidant, d'une part, dans le fait de ne pouvoir s'assurer si l'on suit le cheminement de la molécule originale ou celui de son produit de dégradation et, d'autre part, dans le fait de l'impossibilité légale devant laquelle on peut se trouver dans différents pays d'utiliser de telles préparations chez l'homme.

Compte tenu de l'importance des traitements anti-coagulants à titre préventif ou curatif dans les diverses spécialités médicales, chirurgicales et obstétricales, de la lourdeur de la méthode de contrôle, du nombre important de complications secondaires et de l'apparition d'une pathologie iatrogène spécifique, le besoin se fait sentir de pouvoir disposer d'une méthode d'essai permettant, par la réalisation d'un examen simple et fiable tout en ménageant le confort du patient, d'évaluer les risques ou l'existence de thromboses ou de décider l'institution, la poursuite ou l'arrêt d'un traitement anti-coagulant.

La demanderesse a par conséquent trouvé un moyen d'investigation de diagnostic ou de pronostic grâce à un nouveau complexe héparinique stable et fiable comprenant dans sa molécule au moins un atome d'un radio-élément à vie courte émetteur de radiations non ionisantes.

En particulier, l'invention couvre un tel complexe héparinique marqué par du Technétium 99m ou par de l'iode 123.

L'invention couvre également comme indiqué

ci-dessus, le procédé pour l'obtention de tels complexes hépariniques ainsi que, à titre de produits industriels nouveaux, les dérivés intermédiaires entrant dans la mise en oeuvre de ce procédé.

5

Ces dérivés intermédiaires sont caractérisés par le fait qu'ils consistent en au moins un dérivé héparinique de base associé ou combiné à un agent choisi pour agir sur le radio-élément et pour favoriser sa fixation sur la molécule d'héparine.

10

Selon une première variante, le dérivé héparinique de base comprend au moins un dérivé stanneux de l'Héparine.

15

Suivant une autre variante, ce dérivé héparinique de base est associé à un produit susceptible de libérer l'ion  $I^-$  des solutions d'iodures de sodium ou de potassium du commerce et de permettre sa fixation immédiate sur la molécule d'Héparine.

20

La description qui va suivre, donnée à titre explicatif et nullement limitatif, fera mieux comprendre la portée et l'intérêt de l'invention.

25

Les complexes hépariniques marqués selon l'invention sont essentiellement ceux dont la structure de base est celle de l'Héparine ou d'un de ses dérivés dont la formule est bien connue et qui n'est pas à reproduire ici, formule de base sur laquelle est fixé au moins un atome d'un radio-élément à vie courte émetteur de radiations non ionisantes comme le Technétium 99m ou l'iode 123.

30

Bien entendu, l'homme de l'art peut faire appel à d'autres isotopes de mêmes propriétés bien que le Technétium 99m et l'iode 123 soient préférés parmi les radio-

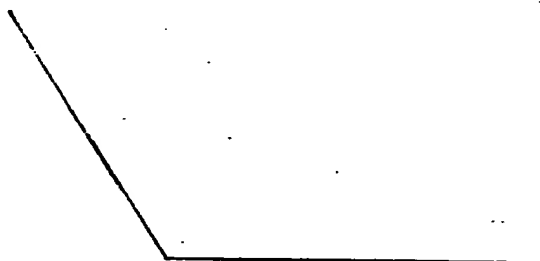
35

éléments étant donné que ceux-ci sont facilement mis à la disposition de tous les services de médecine nucléaire.

Le procédé permettant l'obtention de ces complexes consiste à réaliser une solution de base d'Héparine purifiée (ou d'un dérivé d'Héparine) tamponnée phosphatée ajustée à pH 6 et à se servir de cette solution de base pour fixer l'élément radio-actif désiré en associant ladite Héparine (ou son dérivé) à l'agent susceptible de réagir avec ledit élément radio-actif.

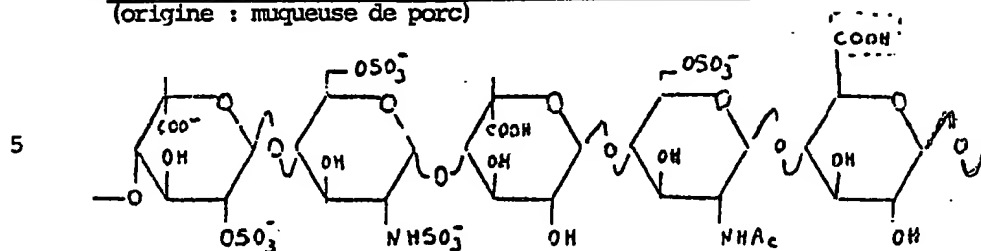
Selon un mode de réalisation avantageux pour fixer le Technétium 99m, le procédé consiste à faire réagir ladite solution de base avec du chlorure stanneux pour obtenir, à titre de produit nouveau servant d'intermédiaire, le dérivé stanneux héparinique, lequel dérivé sera susceptible de réagir facilement avec l'ion pertechnétate  $TcO_4^-$  pour donner le dérivé correspondant héparinique sur lequel sera fixé l'ion réduit  $Tc_4^+$ .

De façon plus particulière, pour la mise en oeuvre de ce mode de réalisation, on ajoute goutte à goutte sous agitation magnétique constante et barbotage d'azote, du chlorure stanneux dissous dans l'acide chlorhydrique 0,1 N (le temps de réaction est de quinze minutes), puis on complète le volume à un litre à l'aide d'eau distillée dégazée, le pH étant régulièrement corrigé pour maintien à 6, à l'aide d'une solution de soude déci-normale. La solution finale est répartie en flacons, toujours sous atmosphère inerte, puis lyophilisée. La réaction avec l'ion pertechnétate se fait alors de la façon suivante :



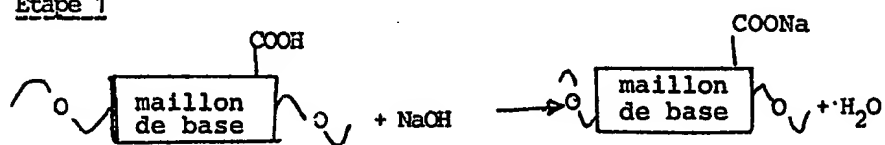
5.

a) Maillon de base héparinique à activité biologique  
(origine : muqueuse de porc)

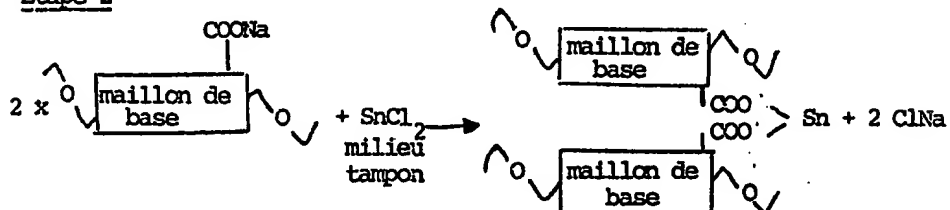


b) Réaction conduisant au complexe Héparine -<sup>99m</sup>Tc

10 Etape 1

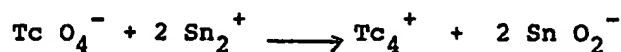


15 Etape 2



20

Etape 3

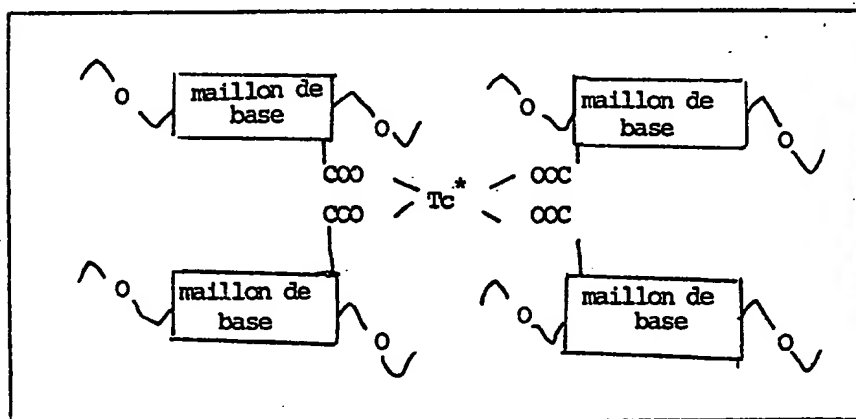


25 Etape 4

25

30

35



Complexe final

6.

Suivant une autre variante, pour fixer l'iode radio-actif, on associe ladite Héparine de base à un agent susceptible de libérer l'ion  $I^-$  des solutions d'iodures de sodium ou de potassium du commerce.

5 De façon avantageuse, ledit agent consiste en un milieu comprenant un composé à base de chloroglycoluril disponible actuellement dans le commerce.

10 De façon plus particulière, ledit milieu consiste en billes de verre supportant ledit composé chloroglycoluril.

De façon encore plus particulière, on procède de la façon suivante :

15 La solution tamponnée est complétée à un litre, le pH ajusté à 6. La répartition et la lyophilisation sont pratiquées immédiatement. En fin de lyophilisation et avant bouchage, on introduit dans le flacon une "bille réactive", préparée suivant la méthode décrite ci-après, à partir de chloroglycoluril, destinée à libérer l'ion  $I^-$  des solutions d'iodure de sodium du commerce et permettre sa fixation immédiate sur la molécule d'Héparine.

20 Le chloroglycoluril étant insoluble en phase aqueuse, mais instable, est difficile à séparer de la préparation finale donc gênant pour les utilisations ultérieures.

25 Ladite méthode consiste donc à préparer des billes de verre de petit diamètre et dont la surface a été préalablement attaquée par hydrolyse. Le chloroglycoluril est dissous dans du chloroforme en proportions convenables.

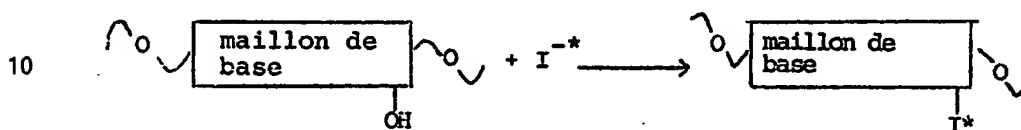
30 Billes et solution réactive sont ensuite placées dans un évaporateur

7.

rotatif et soumises à un vide poussé, puis chauffées à 110°C pendant deux heures.

Chacune des billes est ensuite placée dans le flacon de lyophilisat, puis le bouchage est effectué sous atmosphère inerte.

La fixation de l'iode se fait alors de la façon suivante :



On comprendra aisément que les marquages isotopiques qui viennent d'être décrits peuvent être faits extemporanément par adjonction des solutions radio-actives., Technétium ou Radioiode, respectivement dans le flacon de préparation adéquate. Une brève agitation au vortex suivie d'un temps d'incubation de quinze minutes à température ambiante suffisent à assurer un rendement de marquage supérieur à 95 %, vérifié par radiochromatographie.

La toxicité des préparations avant marquage est nulle aux doses utilisées. La préparation de "billes réactives" dans le cas du marquage par radioiode, évite la dispersion du chloroglycoluril insoluble dans les préparations : des agitations prolongées n'ont pas permis de mettre en évidence une quelconque migration du réactif adsorbé.

Il est précisé qu'avant le stade de lyophilisation, tous les composés ont subi une stérilisation préalable par microfiltration.

Le devenir des préparations marquées a ensuite été testé chez l'animal (rat - chien) et permettait



de dire que les molécules marquées se comportaient de façon comparable à celle de l'Héparine thérapeutique, les tests biologiques classiques d'activité de l'Héparine étant applicables aux composés marqués.

5

Des études plus poussées ont alors été entreprises sur des cultures cellulaires et en particulier des cultures d'endothélium vasculaire d'origine humaine suivant le procédé décrit par Jaffe et Coll. Aucune différence n'a pu être constatée dans le comportement des cellules cultivées vis-à-vis des divers types d'Héparine, marquées ou froides, prouvant bien que les procédés mis en oeuvre dans la technique décrite ne modifiaient pas les devenir métaboliques.

10

Dès lors, des essais ont été pratiqués chez l'homme : la biodistribution des complexes marqués restait constante chez des sujets présumés indemnes de toute pathologie vasculaire ou de la crase sanguine. La mesure de la demi-vie plasmatique des complexes marqués permettait cependant de mettre en évidence la différence entre sujets normaux et pathologiques (mesure par comptages sur prélèvements répétés de quinze minutes en quinze minutes pendant deux heures). Chez les sujets normaux, la demi-vie est de  $T_{1/2} = 180 \pm 30$  minutes.

20

Il en résulte que, devaient être considérés comme suspects, des sujets à  $T_{1/2}$  situé entre -1 et -2 écarts types et, franchement pathologiques, des sujets à  $T_{1/2}$  abaissé de plus de deux écarts types. Par contre, un allongement de  $T_{1/2}$  de plus de deux écarts types traduirait une surcharge en traitement héparinique.

25

Une étude statistique a permis de confirmer la valeur de ces données.

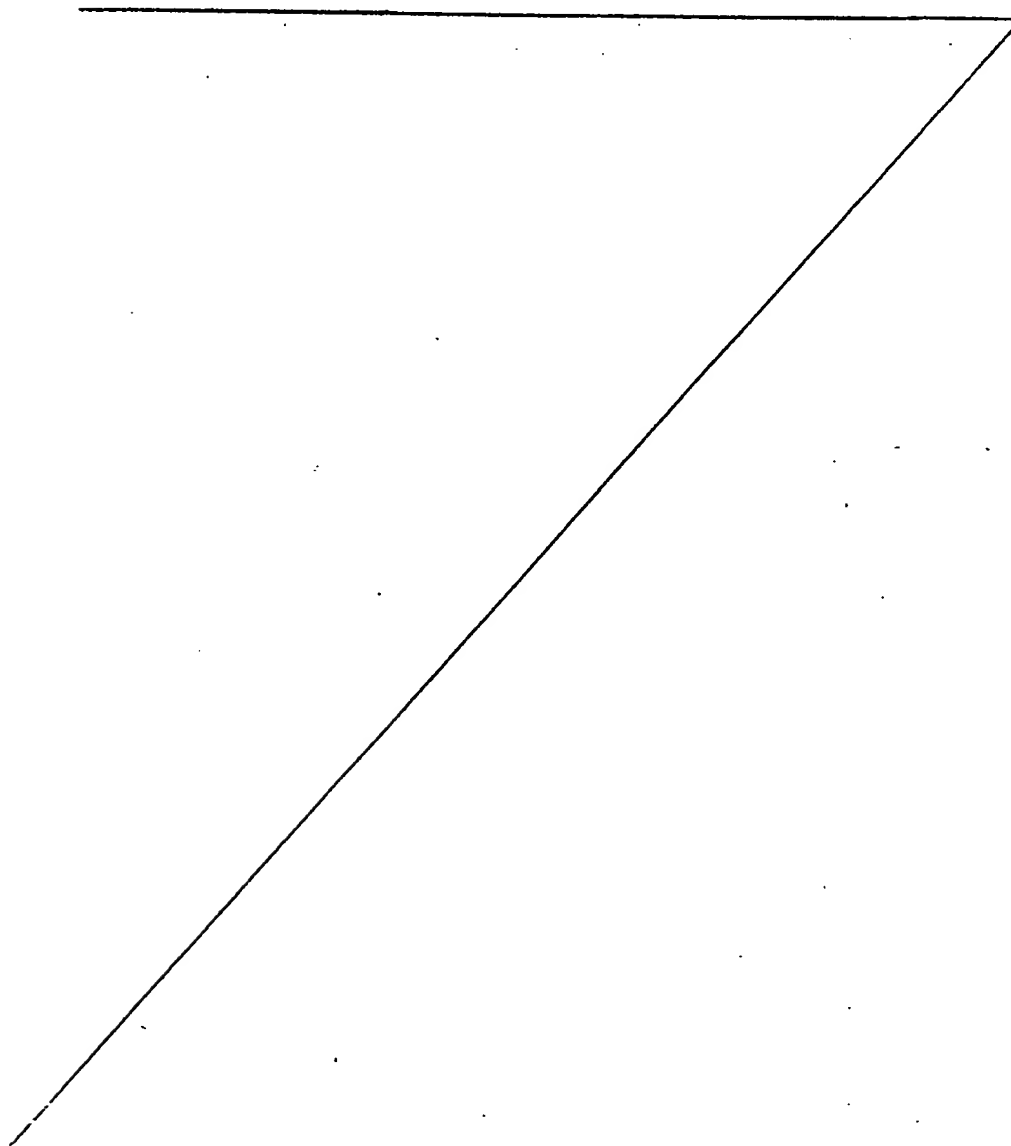
30

Par ailleurs, en matière de traitement anti-coagulant, sur des sujets à haut risque, une étude de 200 cas complètement documentés, prenant comme critère la normalisation de  $T_{1/2}$  pour arrêt du traitement, confirme la fiabilité du test de consommation d'Héparine puisqu'aucune

35

rechute ou complication secondaire n'a été observée.

Il va de soi que la présente invention  
n'a été décrite qu'à titre purement explicatif et nullement  
limitatif et que toutes modifications utiles pourront y être  
5 apportées sans sortir de son cadre.



REVENDEICATIONS

1. A titre de produits industriels nouveaux, des complexes hépariniques caractérisés par le fait qu'ils comprennent au moins une molécule d'Héparine de base  
5 comportant au moins un atome de radio-élément de vie courte émetteur de radiations non ionisantes et qu'ils sont stables.
2. Complexes hépariniques selon la revendication 1, caractérisés par le fait que le radio-élément est le Technétium 99m ou l'iode 123.
- 10 3. Procédé d'obtention des complexes selon la revendication 1 ou 2, caractérisé par le fait qu'il consiste à réaliser une solution de base d'Héparine (ou d'un dérivé d'Héparine) tamponnée phosphatée ajustée à pH 6, à lui  
15 associer un agent susceptible de réagir avec l'élément radio-actif choisi de manière à former en tant qu'intermédiaire un nouveau complexe héparinique et à fixer ce radio-élément par réaction avec ledit nouveau complexe.
- 20 4. Nouveau complexe héparinique destiné à être utilisé dans le stade final du procédé selon la revendication 3, caractérisé par le fait que c'est un dérivé stanneux héparinique.
- 25 5. Nouveau complexe héparinique destiné à être utilisé dans le stade final du procédé selon la revendication 3, caractérisé par le fait que c'est une composition résultant de l'association de la solution de base d'héparine avec un composé du type chloroglycoluril.
- 30 6. Application des complexes hépariniques selon la revendication 1 ou 2 dans les domaines de la biochimie, de la biologie et de la médecine pour la recherche du devenir de l'Héparine dans les organismes vivants.

**Heparin complexes labelled by means of nonionising radiation-emitting radioelements with a short life, method for producing them, intermediate products and application of these complexes**

Publication number: FR2554348

Publication date: 1985-05-10

Inventor:

Applicant: TISSIER GERARD (FR)

Classification:

- International: A61K51/06; A61K51/02; (IPC1-7): A61K49/02;  
C08B37/10; G01N33/60

- European: A61K51/06

Application number: FR19830017684 19831104

Priority number(s): FR19830017684 19831104

[Report a data error here](#)

**Abstract of FR2554348**

The novel industrial products of the invention, which can be used in the fields of biochemistry, biology and medicine, are heparin complexes comprising at least one heparin molecule containing at least one nonionising radiation-emitting radioelement atom with a short life, such as Tc 99m or I 123. The method for producing them consists in combining with a basal solution of heparin, buffered to pH 6, an agent capable of reacting with the radioelement to form a new heparin complex (stannous derivative or combination with chloroglycoluril) and in fixing the said radioelement by reaction with the said complex.

---

Data supplied from the *esp@cenet* database - Worldwide